

STAUROSPOURINE DERIVATIVE

Patent Number: JP3072485
Publication date: 1991-03-27
Inventor(s): YAMADA RINTARO; others: 02
Applicant(s):: ASahi CHEM IND CO LTD; others: 01
Requested Patent: ☐ JP3072485
Application Number: JP19900130285 19900522
Priority Number(s):
IPC Classification: C07D498/22
EC Classification:
Equivalents:

Abstract

NEW MATERIAL:A compound expressed by formula I (R1 and R2 are H, amino, OH or hydroxymethyl, provided that both R1 and R2 are not H).

EXAMPLE:3-Aminostaurosporine.

USE:A blood platelet agglutination inhibitor.

PREPARATION:The methylamino group at the 4'-N-position of a staurosporine expressed by formula II is protected to provide 4'-N-(beta,beta,beta- trichloroethoxycarbonyl)staurosporine, which is then reacted with acetic anhydride to afford an acetyl derivative expressed by formula III (TEC is beta,beta,beta- trichloroethoxycarbonyl). The resultant derivative is subsequently reacted with nitronium trifluorosulfonate to provide a mononitro derivative, which is then deacetylated to afford a compound expressed by formula IV. The obtained compound expressed by formula IV is subsequently reacted with zinc dust and dilute hydrochloric acid to provide the compound expressed by formula I (group R1 is amino group and group R2 is H).

Data supplied from the esp@cenet database - I2

BEST AVAILABLE COPY

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 03-072485

(43)Date of publication of application : 27.03.1991

(51)Int.Cl. C07D498/22
// A61K 31/55

(21)Application number : 02-130285

(71)Applicant : ASAHI CHEM IND CO LTD
KITASATO INST:THE

(22)Date of filing : 22.05.1990

(72)Inventor : YAMADA RINTARO
SASAKI KUNIE
OMURA SATOSHI

(30)Priority

Priority number : 01127851

Priority date : 23.05.1989

Priority country : JP

(54) STAUROSPOURINE DERIVATIVE

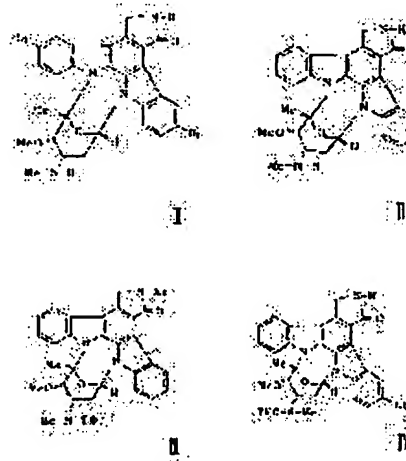
(57)Abstract:

NEW MATERIAL: A compound expressed by formula I
(R1 and R2 are H, amino, OH or hydroxymethyl,
provided that both R1 and R2 are not H).

EXAMPLE: 3-Aminostaurosporine.

USE: A blood platelet agglutination inhibitor.

PREPARATION: The methylamino group at the 4'-N-position of a staurosporine expressed by formula II is protected to provide 4'-N-(β, β, β -trichloroethoxycarbonyl)staurosporine, which is then reacted with acetic anhydride to afford an acetyl derivative expressed by formula III (TEC is β, β, β -trichloroethoxycarbonyl). The resultant derivative is subsequently reacted with nitronium trifluorosulfonate to provide a mononitro derivative, which is then deacetylated to afford a compound expressed by formula IV. The obtained compound expressed by formula IV is subsequently reacted with zinc dust and dilute hydrochloric acid to provide the compound expressed by formula I (group R1 is amino group and group R2 is H).



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2000 Japan Patent Office

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平3-72485

⑬ Int.Cl.⁸
C 07 D 498/22
// A 61 K 31/55

識別記号
ACB

庁内整理番号
8615-4C
7252-4C

⑭ 公開 平成3年(1991)3月27日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全14頁)

⑮ 発明の名称 スタウロスボリンの誘導体

⑯ 特 願 平2-130285

⑰ 出 願 平2(1990)5月22日

優先権主張 ⑱ 平1(1989)5月23日 ⑲ 日本(JP) ⑳ 特願 平1-127851

㉑ 発 明 者 山 田 林 太 郎 宮崎県延岡市旭町6丁目4100番地 旭化成工業株式会社内

㉒ 発 明 者 佐々木 久仁恵 宮崎県延岡市旭町6丁目4100番地 旭化成工業株式会社内

㉓ 発 明 者 大 村 智 東京都港区白金5丁目9番1号 北里研究所(社团法人)
内

㉔ 出 願 人 旭化成工業株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号

㉕ 出 願 人 北里研究所(社团法人)
東京都港区白金5丁目9番1号

㉖ 代 理 人 弁理士 清 水 猛 外1名

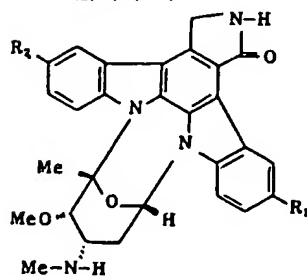
明 細 書

1 発明の名称

スタウロスボリンの誘導体

2 特許請求の範囲

一般式(1)



(式中、R₁ および R₂ はそれぞれ水素原子、アミノ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシメチル基を表す。ただし、R₁ と R₂ は共に水素原子となることはない。)

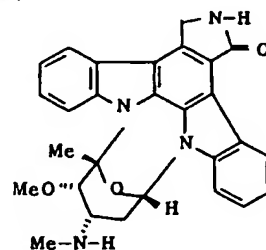
で示されるスタウロスボリン誘導体およびその鹽付加塩。

3 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、血小板凝集阻害作用を有する次式

(II)



(II)

で示されるスタウロスボリンの誘導体に関する。

(従来の技術)

スタウロスボリンが強力な血管弛緩作用および血小板凝集阻害作用を有していることは、既知られている(特開昭53-73501)。

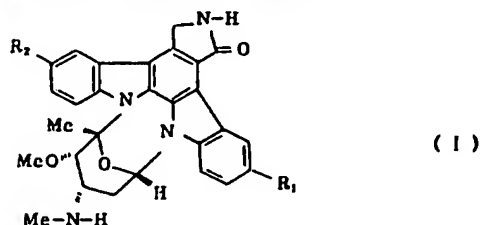
(発明が解決しようとする課題)

スタウロsporinが血小板に特異性の高いものになれば、血小板凝集阻害剤として臨床上有用である。

(課題を解決するための手段)

本発明者らは、スタウロsporin誘導体の家兎摘出血管の弛緩作用、およびヒト血小板凝集阻害作用について検索した。すなわち、強い血小板凝集阻害能を有し、血管弛緩能の弱い化合物について鋭意研究した。その結果、血小板に特異性の高い優れた作用を有するスタウロsporin誘導体の合成に成功し、本発明を完成した。

すなわち、本発明は、一般式(Ⅰ)

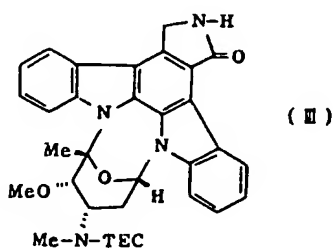


略す)が有効である。

次に示す工程1により、4'-N-位を保護した式(Ⅱ)の化合物が合成される。

(工程1)

式(Ⅱ)の
化合物
(Str)



試薬としてβ, β, β-トリクロロエチルクロホルメート(スタウロsporinに対し1, 1~1.5当量)を用いることにより、式(Ⅱ)で示される4'-N-(β, β, β-トリクロロエトキシカルボニル)スタウロsporinを得ることができる。反応はピリジン溶媒中、0℃~室温の範囲内で行われ、数時間以内に終了する。

(式中、R₁およびR₂はそれぞれ水素原子、アミノ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシメチル基を表す。ただし、R₁とR₂は共に水素原子となることはない。)

で示されるスタウロsporin誘導体およびその酸付加塩に関する。

付加する酸としては、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、辛酸、酢酸、安息香酸、マレイン酸、フマル酸、コハク酸、酒石酸、クエン酸、シュウ酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、アスパラギン酸、グルタミン酸等がある。

一般式(Ⅰ)で示される化合物およびその酸付加塩は、強力な血小板凝集阻害作用を有する。

一般式(Ⅰ)で示される化合物は、スタウロsporinより数工程で製造することができる。その方法を説明する。

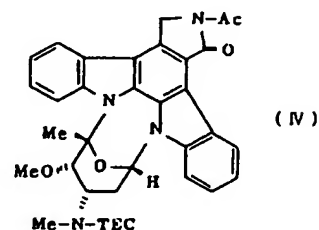
式(Ⅱ)で示されるスタウロsporinの4'-N-位のメチルアミノ基は、反応活性が高いため保護する必要がある。保護基は、β, β, β-トリクロロエトキシカルボニル基(以下、TEC基と

以下の工程でも同様であるが、生成物の単離、精製は、通常用いられる方法、例えば、抽出、結晶化、クロマトグラフィー等と組み合わせることにより行うことが可能である。

6-位のアミド窒素原子の保護基としてアセチル基を導入した式(Ⅳ)の化合物は、次に示す工程2により合成できる。

(工程2)

式(Ⅲ)の
化合物



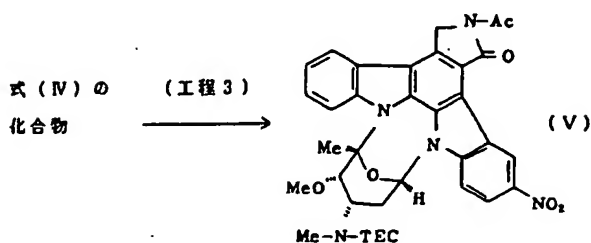
式(Ⅲ)の化合物を2, 6-ルチジンに溶解し、無水酢酸を反応させて、式(Ⅳ)のアセチル体を得ることができる。無水酢酸は通常、式(Ⅲ)の化合物に対し、5当量以上が適当である。反応は

特開平3-72485 (3)

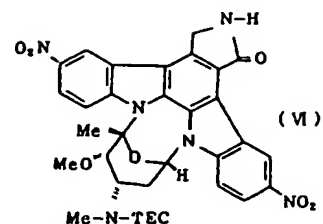
120～130℃の範囲で行われ、数時間内で終了する。

芳香環に置換基（ニトロ基）を導入した式（V）および（VI）の化合物は、次の工程3により合成できる。

（工程3）



式（II）の化合物 $\xrightarrow{\text{（工程3）}}$

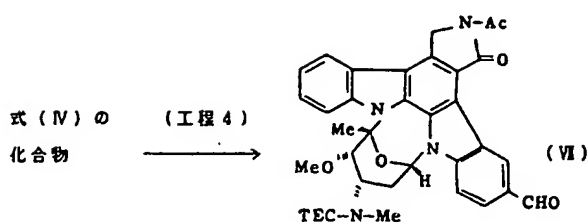


式（IV）または（II）の化合物をジクロロメタン中、ニトロニウムトリフルオロスルホネートを反応させて、それぞれ式（V）のモノニトロ体、式（VI）のジニトロ体を得ることができる。ニトロニウムトリフルオロスルホネートは式（V）の化合物の合成に関しては1.2～1.5当量、式（VI）の化合物の合成に関しては1.0～2.0当量使用するのが適当で、反応は-60～-78℃の範囲で行われ、1時間以内で終了する。

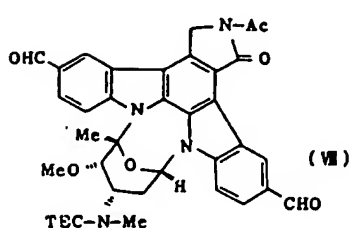
芳香環に置換基（ホルミル基）を導入した式（VII）、（VIII）の化合物は、次の工程4により合

成できる。

（工程4）

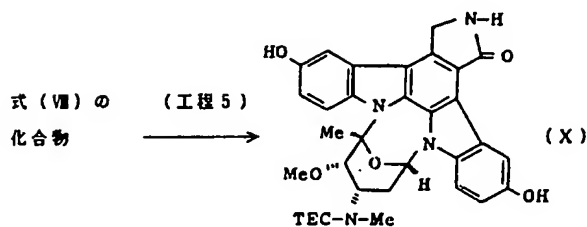
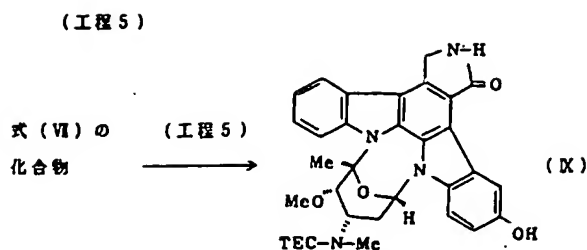


または

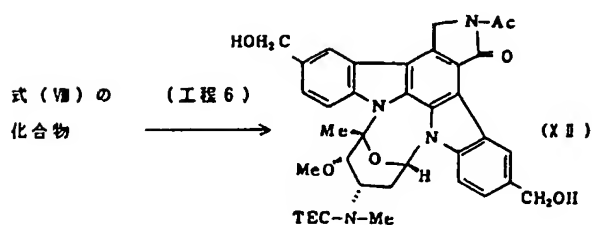


式（IV）の化合物をジクロロメタン中、四塩化チタンおよび α 、 α -ジクロロメチルメチルエーテルを反応させて、モノホルミル体（VII）およびジホルミル体（VIII）を得ることができる。モノホルミル体合成に関しては、四塩化チタンは2～1.5当量、また、 α 、 α -ジクロロメチルメチルエーテルは1.5～3当量使用するのが適当で、反応は0℃～室温の範囲で行われ、6～12時間で終了する。また、ジホルミル体合成に関しては、四塩化チタンは2.0～2.5当量、また、 α 、 α -ジクロロメチルメチルエーテルは1.0～1.5当量使用するのが適当で、反応は0℃～室温の範囲で行われ、6～12時間で終了する。

R₁が水酸基であり、かつ、R₂がそれぞれ水素および水酸基である式（IX）、（X）のスクロスポリン誘導体の合成は、次に示す工程5により得られる。この工程5は、バイヤー・ヒリガー型の転位反応、次いで脱アセチル化を行う。



式 (VI) あるいは (VII) の化合物をジクロロメ

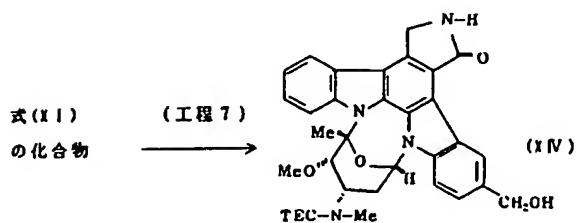
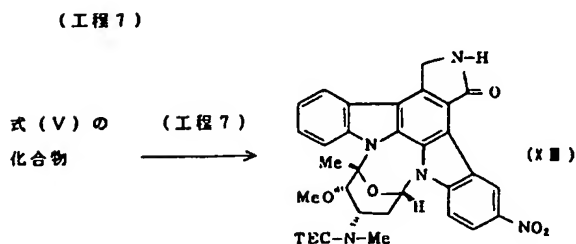
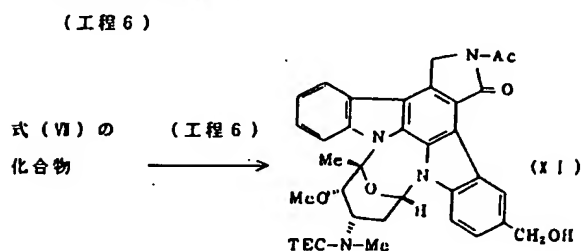


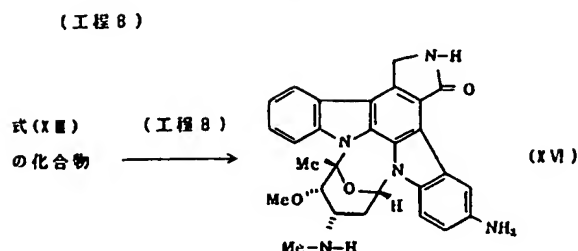
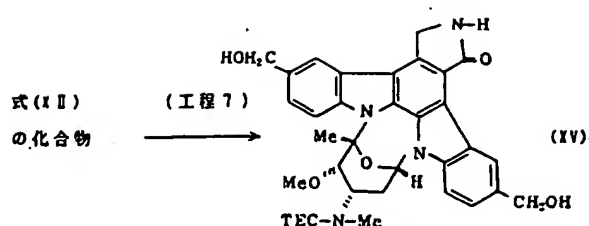
式 (VI) あるいは (VII) の化合物を不活性溶媒中、水素化ホウ素ナトリウムと反応させて、それぞれ式 (XI) のモノヒドロキシメチル体、式 (XII) のジヒドロキシメチル体を得ることができる。不活性溶媒としては、テトラヒドロフランまたはジオキサン等がある。水素化ホウ素ナトリウムは、反応出発物質のホルミル基に対して 1.5 ~ 5 当量が適当である。反応は 0℃ ~ 室温の範囲内で行われ、数時間以内で終了する。

式 (V)、(XI) および (XII) の化合物の脱アセチル化は、次に示す工程 7 で実行される。

タン中、メタクロロ過安息香酸および炭酸水素カリウムと光遮断下、転位反応を行い、その後、水酸化ナトリウム水溶液で処理し、脱アセチル化を行い、それぞれ式 (IX) のモノヒドロキシ体、式 (X) のジヒドロキシ体を得ることができる。メタクロロ過安息香酸は 2 ~ 6 当量が適当で、反応は室温で行われ、数時間以内で終了する。

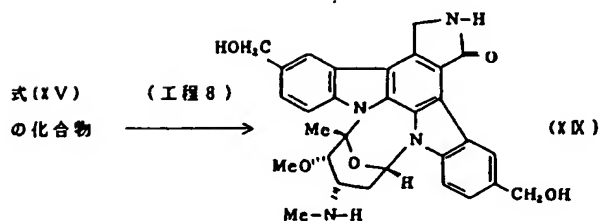
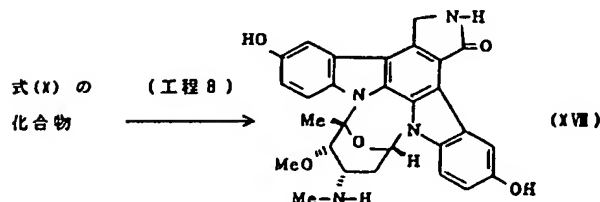
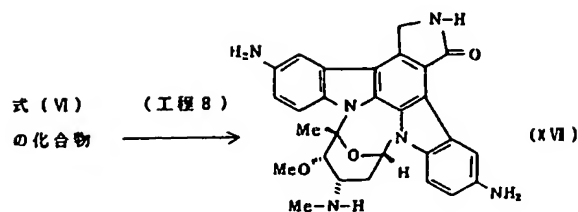
R₁ がヒドロキシメチル基であり、かつ、R₂ がそれぞれ水素およびヒドロキシメチル基である式 (XI)、(XII) のスタウロsporin 誘導体の合成は、次の工程 6 により得られる。





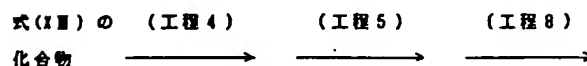
式(V)、(XI)または(XII)の化合物を不活性溶媒中、抱水ヒドラジンを反応させ、それぞれ(XIII)、(XIV)、(XV)の脱アセチル体を得ることができる。使用可能な不活性溶媒の例としてメチルセロソルブ、テトラヒドロフラン、ジオキサン等があり、抱水ヒドラジンは式(V)、(XI)、(XII)の化合物に対して大過剰使用される。反応は0℃～室温の範囲で行われ、数時間で終了する。

脱TECした式(XVI)、(XVII)、(XVIII)および(XIX)のスタウロsporin誘導体の合成は、次に示す工程8により得られる。この工程8は、脱TEC化の反応を行うが、同時にニトロ基のアミノ基への変換が実行される。

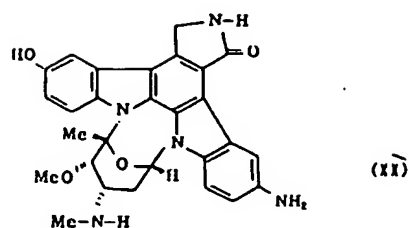


て、それぞれ式(XVI)のモノアミノ体、式(XVII)のジアミノ体、式(XVIII)のジヒドロキシ体、式(XIX)のジヒドロキシメチル体を得ることができる。また、この工程により、式(X)、(XIV)からそれぞれ相当するモノヒドロキシ体、モノヒドロキシメチル体を得ることができる。不活性溶媒の例としては、メチルセロソルブ、テトラヒドロフランまたはジオキサン等がある。反応は0℃～室温の範囲内で行われ、数時間以内で終了する。

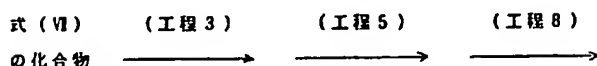
また、3-位と9-位に異なる置換基を導入した誘導体、例えば3-アミノ-9-ヒドロキシスタウロsporin(XI)の合成は、次のように式(XIII)の化合物より、工程4、工程5および工程8を順次、実行することによって合成できる。



式(XIII)、(VI)、(X)、(XV)の化合物を不活性溶媒中、亜鉛粉末および希塩酸と反応させ



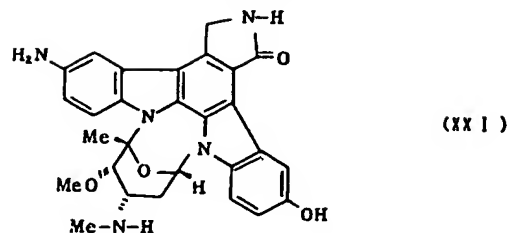
また、3-ヒドロキシ-9-アミノスタウロスポリン (XXI) の合成は、次のように式 (VI) の化合物より工程3、工程5および工程8を順次、行うことによって合成できる。



懸濁剤で処方することにより、上記症状の改善を企てることができる。

本発明に使用する前記有効成分は、かかる治療を必要とする患者に対して、患者当たり0.01～40mgの用量範囲で、一般に数回に分けて、したがって1日当たり0.1～200mgの全日用量で投与することができる。用量は症状の程度、患者の体重および当該者（医師ら）が認める他の因子によって変化させる。

錠剤、カプセル剤等に混和することができる具体的な薬剤は、次に示すものである。トラガント、アラビアゴム、コーンスターチ、またはゼラチンのような結合剤；微結晶性セルロースのような賦形剤；コーンスターチ、ゼラチン化デンプン、アルギン酸等のような膨化剤；ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤；ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤；ペパーミント、アカモノ油、またはチェリーのような香味剤を添加し、調剤単位形態がカプセルである場合には、上記タイプの材料に、さらに油脂のような液状担体を含む



(作用)

本発明の一般式 (I) で示されるスタウロスポリン誘導体は、血管収縮阻害作用も合わせ持つが、血小板に対してはより特異的に強い凝集阻害作用を持っている。したがって、血小板凝集が誘因の一つである血栓症、特に、悪性腫瘍、火傷、動脈硬化、脳梗塞などに伴う血流不全の改善に有効であると考えられる。

本発明の一般式 (I) で示される化合物を有効成分として含有するスタウロスポリン誘導体制剤は、経口投与として錠剤、カプセル剤のような調剤で、または非経口投与として無菌溶液剤または

させることができる。種々の他の材料は、被覆剤として、また調剤単位の物理的形態を別な方法で変化させるために存在させることができる。

注射のための無菌組成物は、注射用水のようなベヒクル中の活性物質、ゴマ油、ヤシ油、落花生油、綿実油等の天然産出植物油、またはエチルオレエート等のような合成脂肪ベヒクルを溶解あるいは懸濁させる通常の製剤実施にしたがって処方することができる。緩衝剤、防腐剤、酸化防止剤等を必要に応じて混和することもできる。

(発明の効果)

(血小板凝集に対する作用)

ヒト静脈より3.8%クエン酸ナトリウム1/10容を添加して採血した血液を、1000回転10分間遠心し、血小板多血漿 (PRP) を調製した。次に、血小板凝集計のキューベットに、PRP 200μl および被験化合物を含むリン酸緩衝液 25μl を加えて混和し、37℃、3分間インキュベートした後、攪拌しながら、血小板凝集惹

起物質としてコラーゲン溶液（終濃度 $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）、アデノシン二リン酸（ADP）溶液（終濃度 $5 \mu\text{M}$ ）または9, 11-ジデオキシ-9 α , 11 α -メタノエポキシ-プロスタグランジンF $_{2\alpha}$ （U46619）溶液（終濃度 $0.3 \mu\text{M}$ ） $25 \mu\text{l}$ を添加し、血小板凝集に伴う透過度の変化を測定した。被験化合物の濃度を種々変えて測定を行い、本測定系で血小板凝集を50%阻害する化合物の濃度、 IC_{50} 値を求めた。結果は第1(A)表および第1(B)表に示す。

3-アミノスタウロスポリンおよび3, 9-ジアミノスタウロスポリンは、コラーゲン、ADP凝集において、また3, 9-ジヒドロキシスタウロスポリンおよび3, 9-ジヒドロキシメチルスタウロスポリンは、コラーゲン、ADPおよびU-46619いずれの凝集においても、スタウロスポリンに比較して、強い血小板凝集阻害作用を示した。

（摘出血管平滑筋に対する作用）

家兎胸部大動脈をジャーナル・ファーマコロジカル・エクスペリメンタル・セラピー、231巻141～145頁（1984）に示すごとく摘出し、血管条片を作成した。また、実験方法も上記雑誌記載条件に準じた。

実験方法の概略を記す。血管条片標品を10 ml のクレープス・ヘンゼライト液中で、等尺性懸垂させ、収縮惹起物質・KCl（終濃度60 mM ）を添加し、予備収縮を行った。その後洗浄し、KClを10, 20, 30, 40, 60 mM と累積添加し、収縮を惹起させ、その張力を薬物無添加コントロールとした。さらに洗浄後の血管標品に、被験化合物溶液を添加し、1時間ブレインキューベーションした。その後、KClを累積的に添加し（10～60 mM ）、収縮抑制反応を観察した。

40 mM KClによる血管収縮を50%抑制する濃度（ ED_{50} 値）を求め、第2表に示した。

3-アミノスタウロスポリン、3, 9-ジアミ

第1(A)表

化 合 物		IC_{50}
コラーゲン 凝集 $4 \mu\text{g}/\text{ml}$	3-アミノスタウロスポリン	0.9 μM
	3,9-ジアミノスタウロスポリン	0.3 μM
	スタウロスポリン（公知化合物）	8.5 μM
ADP 凝集 $5 \mu\text{M}$	3-アミノスタウロスポリン	0.3 μM
	3,9-ジアミノスタウロスポリン	0.06 μM
	スタウロスポリン（公知化合物）	6.4 μM

第1(B)表

化 合 物		IC_{50}
コラーゲン 凝集 $3 \mu\text{g}/\text{ml}$	3,9-ジヒドロキシスタウロスポリン	1.2 μM
	3,9-ジヒドロキシメチルスタウロスポリン	0.53 μM
	スタウロスポリン（公知化合物）	8.4 μM
ADP 凝集 $5 \mu\text{M}$	3,9-ジヒドロキシスタウロスポリン	2.0 μM
	3,9-ジヒドロキシメチルスタウロスポリン	1.1 μM
	スタウロスポリン（公知化合物）	6.4 μM
U 46619 凝集 $0.3 \mu\text{M}$	3,9-ジヒドロキシスタウロスポリン	1.0 μM
	3,9-ジヒドロキシメチルスタウロスポリン	1.1 μM
	スタウロスポリン（公知化合物）	8.2 μM

ノスタウロスポリン、3, 9-ジヒドロキシスタウロスポリンおよび3, 9-ジヒドロキシメチルスタウロスポリンは、KCl収縮において、スタウロスポリンに比較して、弱い収縮阻害を示した。

第2表

化 合 物	ED_{50} 40 mM -KCl
3-アミノスタウロスポリン	0.25 μM
3,9-ジアミノスタウロスポリン	0.5 μM
3,9-ジヒドロキシスタウロスポリン	5.0 μM
3,9-ジヒドロキシメチルスタウロスポリン	0.5 μM
スタウロスポリン （公知化合物）	0.05 μM

この結果、本発明化合物は血管収縮と同程度もしくは低濃度で血小板凝集作用を発揮した。特に3, 9-ジアミノスタウロスポリンは、0.06～0.3 μM という低濃度で効果を示した。また、3, 9-ジヒドロキシスタウロスポリンでは、血管収縮が5.0 μM であるのに対し血小板凝集阻害は1.0～2.0 μM で効果を示し、同様に3,

9-ジヒドロキシメチルスタウロスポリンは血管収縮が0.5 μ M、血小板凝集阻害は0.5~1.1 μ Mで効果を示した。一方、スタウロスポリンは、本発明化合物群に比し、むしろ血管収縮に対する効果の強いことが判る。すなわち、本発明化合物群が血小板に対して、高い特異性を有することを示す。

(実施例)

次に実施例を示す。

実施例1

(I) 4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

スタウロスポリン932mg(2.0 mmol)を乾燥ピリジン10mlに溶解し、0℃に冷却下、 β , β , β -トリクロロエチルクロロホルメート0.3ml(2.2 mmol)を滴下し、10時間反応させた。反応液に水10mlを加え、クロロホルムで抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧除去し、その

残渣をシリカゲルを用いたカラムクロマトグラフィー(溶出溶媒:クロロホルム)で精製し、淡黄色結晶4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン1052mgが得られた(収率82%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ)
9.40(d, 1H, $J=8$ Hz), 8.00~7.20(m, 7H), 6.75~6.68(m, 1H), 6.62(br. s, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.77 (br. s, 2H), 4.07(br. s, 1H), 2.85(s, 3H), 2.70~2.55(m, 1H), 2.60(s, 3H), 2.50~2.40(m, 2H), 2.41(s, 3H)

IR (KBr): 3420, 2950, 1705, 1685, 1638, 1590, 1455, 1395, 1383, 1345, 1310, 1283, 1255, 1230, 1140, 1112, 1105, 1075, 1055, 1020, 810, 745, 720 cm^{-1}

MS m/z 640 (M^+), 642($M^+ + 2$), 644($M^+ + 4$)

(II) 6-アセチル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン846mg(1.32 mmol)を、2, 6-ルチジン35mlに溶解し、無水酢酸12mlを滴下し、140℃に加熱下、3時間反応させた。反応液にクロロホルム40mlを加えた後、その溶液を希塩酸、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で順次洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧除去し、残渣をアセトンにて再結晶して、淡黄色結晶6-アセチル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン 770mgを得た(収率85%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ)
9.40(d, 1H, $J=8$ Hz), 8.00~7.20(m, 7H), 6.73 (m, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.80(s, 2H), 3.95(br. s, 1H), 2.85(s, 3H), 2.65(s, 3H), 2.70~2.55(m, 1H), 2.55(s, 3H), 2.50~2.40(m, 2H), 2.41(s, 3H)
IR (KBr): 2930, 1715, 1685, 1630, 1590, 1450, 1385, 1337, 1280, 1135, 1110, 745 cm^{-1}
MS m/z 682 (M^+), 684($M^+ + 2$), 686($M^+ + 4$)

(III) 6-アセチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

乾燥ジクロロメタン20mlを0℃に冷却し、トリフルオロメタンスルホン酸75 μ lを加えた後、発煙硝酸35 μ lを加え、20分間攪拌した。反応液を-78℃に冷却し、6-アセチル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン085mg(0.56 mmol)のジクロロメタン溶液40mlを滴下し、30分間反応を行った。反応終了液を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤濾去後、溶媒を減圧下に除去した残渣をメタノールにより再結晶して、淡黄色結晶6-アセチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン 373mgを得た(収率91%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 , δ)

9.85(s, 1H), 8.00 ~ 6.90(m, 6H), 6.75 (br. s, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.85(s, 2H), 3.95(br. s, 1H), 2.90(s, 3H), 2.70(s, 6H), 2.40(s, 3H), 2.90 ~ 2.40(m, 3H)

IR (KBr): 3400, 2950, 1715, 1695, 1600, 1520, 1465, 1345, 1135, 1110, 745 cm^{-1}

MS m/z 727 (M^+), 729($M^+ + 2$), 731($M^+ + 4$)

(iv) 3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン

6-アセチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 373 mg (0.51 mmol) をメチルセロソルブ 50 ml に加えた後、抱水ヒドラジン (85%) 12 ml を滴下し、室温にて3時間反応を行った。反応終了液に水 500 ml を加えた後、クロロホルムで抽出し、そのクロロホルム溶液を水洗いし、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、そ

の残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム) により精製して、黄色結晶 3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 274 mg を得た (収率 78%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO- d_6)
9.86(d, 1H, $J=2.5$ Hz), 8.00~7.32(m, 6H), 7.28 (br. s, 1H), 4.90 (br. s, 4H), 4.00(s, 1H), 3.30~3.15(m, 1H), 2.75(s, 3H), 2.90~2.70(m, 1H), 2.53(s, 3H), 2.35 ~ 2.20(m, 1H), 2.15(s, 3H)

IR (KBr): 3400, 2950, 1695, 1595, 1520, 1465, 1345, 1140, 1110, 745 cm^{-1}

MS m/z 685 (M^+), 687($M^+ + 2$), 689($M^+ + 4$)

(v) 3-アミノスタウロスボリン

3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 100 mg (0.146 mmol) をメチルセロソルブ 500 ml に溶解し、0℃に冷却下、亜鉛粉末 1.0 g および 1N-塩酸 10 ml を順次加え、室温で2時間反応を行った。反応終了後、飽和炭酸水素

ナトリウム水溶液 50 ml を加え、亜鉛等の不溶物を濾去した。溶液にクロロホルムを加えて抽出し、クロロホルム溶液を水洗いした後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製して、薄茶色結晶の3-アミノスタウロスボリン 25 mg を得た (収率 36%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ)
8.79(d, 1H, $J=2.1$ Hz), 7.91 (d, 1H, $J=8.5$ Hz), 7.86 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.39(t, 1H, $J=8.0, 8.5$ Hz), 7.29(t, 1H, $J=7.5, 8.0$ Hz), 7.09(d, 1H, $J=8.5$ Hz), 6.93(dd, 1H, $J=2.1, 8.5$ Hz), 6.57(d, 1H, $J=5.7$ Hz), 5.00(s, 2H), 3.84(d, 1H, $J=3.5$ Hz), 3.38(s, 3H), 3.32(dd, 1H, $J=3.5, 7.1$ Hz), 2.69(d, 1H, $J=5.7, 16.1$ Hz), 2.34(m, 1H), 2.33(s, 3H), 1.54(s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , δ)
173.695, 139.738, 139.546, 131.691, 131.595, 130.794, 127.537, 124.679, 124.253, 124.030,

120.543, 119.902, 118.412, 115.212, 115.092, 114.842, 113.851, 111.853, 107.428, 91.077, 84.176, 80.141, 57.258, 50.353, 45.904, 33.353, 30.227, 30.045

IR (KBr): 3400, 3350, 2940, 1670, 1620, 1585, 1495, 1487, 1455, 1320, 1280, 1235, 1110, 750 cm^{-1}

MS m/z 481 (M^+)

実施例 2

(1) 3, 9-ジニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン

乾燥ジクロロメタン 16 ml を 0℃に冷却し、トリフルオロメタンスルホン酸 440 μl を加えた後、発煙硝酸 250 μl を加え、20分間攪拌した。反応液を -78℃に冷却し、4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 200 mg (0.31 mmol) のジクロロメタン 12 ml に溶解した溶液を滴下し、45分間、反応を行った。反応終了液を飽和炭酸水素

ナトリウム水溶液および水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧除去することにより黄色結晶3, 9-ジニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン193mgを得た(収率85%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆)
9.93(s, 1H), 8.67(s, 1H), 8.29(d, 1H, J=7.8 Hz),
8.20(d, 1H, J=7.8 Hz), 8.10(d, 1H, J=8.4 Hz), 7.
77(d, 1H, J=8.4 Hz), 7.07(br. s, 1H), 5.00 (br.
s, 4H), 4.30(br. s, 1H), 3.10~2.10(m, 3H), 2.73
(s, 3H), 2.53(s, 3H), 2.40(s, 3H)

IR (KBr) : 1700, 1595, 1518, 1465, 1340, 130
2, 1230, 1145, 1100, 820, 797, 745 cm⁻¹

MS m/z 731 (M⁺ +1), 733(M⁺ +3), 735(M⁺ +5)

(ii) 3, 9-ジアミノスタウロスポリン
3, 9-ジニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン100mg (0.137 mmol) をメチルセロ

ソルブ28mlに溶解し、0℃に冷却下、亜鉛粉末2.6gおよび1N-塩酸15mlを順次加え、室温で2時間反応を行った。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液60mlを加え、不溶物を濾去した。溶液にクロロホルムを加えて抽出し、無水ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して、薄褐色結晶3, 9-ジアミノスタウロスポリン21mgを得た(収率31%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d₆)
8.44(d, 1H, J=2.0 Hz), 8.31 (br. s, 1H), 7.64
(d, 1H, J=9.0 Hz), 7.24(d, 1H, J=8.3 Hz), 7.09
(d, 1H, J=1.8 Hz), 6.81(dd, 1H, J=2.0, 8.3 Hz), 6.
74(dd, 1H, J=1.8, 9.0 Hz), 6.53(d, 1H, J=5.0 Hz),
c.a. 4.80(br. s, 4H), 4.79(s, 2H), 3.98(br. s,
1H), 3.45(m, 1H), 3.21(s, 3H), 2.48(m, 1H), 2.35
(m, 1H), 2.21(s, 3H), 1.63(s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d₆)
c)

172.555, 142.278, 141.482, 132.378, 131.499,
130.207, 130.102, 126.858, 124.997, 123.631,
118.000, 115.303, 114.528, 113.677, 113.396,
112.839, 109.379, 108.404, 104.185, 91.077,
82.671, 80.105, 57.690, 50.890, 45.309,
40.282, 33.546, 29.685

IR (KBr) : 3330, 2940, 1665, 1608, 1570, 148
8, 1460, 1450, 1400, 1340, 1315, 1285, 1235, 1142,
1128, 1100, 1068, 1040, 795, 720 cm⁻¹

MS (FAB-) 497 (M⁺ +1)

実施例3

(i) 6-アセチル-3, 9-ジホルミル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン

乾燥ジクロロメタン1mlに6-アセチル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン100mg (0.196 mmol) を溶解させ、0℃に冷却下、四塩化タン320 μ l (2.0eq)、さらに α , α -ジクロロメチルメチルエーテル130 μ l (1.0eq) を

加え、室温で25時間反応を行った。反応終了液にジクロロメタン100mlを加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧除去することにより、黄色結晶6-アセチル-3, 9-ジホルミル-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスポリン72mg (0.13 mmol) を得た(収率67%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆)
10.07(s, 1H), 9.83(s, 1H), 9.23(s, 1H), 8.29(s, 1H), 8.02(d, 1H, J=2.8 Hz), 7.93(d, 1H, J=7.8 Hz), 7.
73(d, 1H, J=7.8 Hz), 7.60(d, 1H, J=7.8 Hz), 6.91
(br. s, 1H), 5.06(s, 2H), 4.99(s, 2H), 4.26(br. s,
1H), 3.10~2.10(m, 3H), 2.73(s, 3H), 2.53(s, 3H),
2.52(s, 3H), 2.41(s, 3H)

IR (KBr) : 1720, 1695, 1640, 1623, 1596, 138
6, 1337, 1295, 1197, 1143, 1117, 807, 782, 763, 715
cm⁻¹

MS m/z 738 (M⁺), 740(M⁺ +2), 742(M⁺ +4)

(ii) 3, 9-ジヒドロキシ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン

6-アセチル-3, 9-ジホルミル-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 272 mg (0.37 mmol) をジクロロメタン 50 ml に加え溶解した後、メタクロロ過安息香酸 346 mg および炭酸水素ナトリウム 100 mg を加え、光遮断下、室温にて 3.5 時間反応を行った。反応終了液を飽和亜硫酸ナトリウム水溶液 50 ml、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 50 ml および水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤濾去後、溶媒を減圧下に除去した残渣をメチルセロソルブ 45 ml に溶解した後、4N-水酸化ナトリウム水溶液 10 ml を加え、室温にて 2 時間攪拌した。反応終了液を 1N-希塩酸 50 ml で中和した後、ジクロロメタンで抽出し、そのジクロロメタン溶液を水洗いし、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリ

セロソルブ 50 ml に溶解し、0℃に冷却下、亜鉛粉末 7.5 g および 1N-塩酸 15 ml を順次加え、室温で 2 時間反応を行った。反応終了液を 0.4N 水酸化カリウム水溶液で pH 5 に調整した後、不溶物を濾過した。溶液を吸着樹脂 HP-20 (三菱化成) に吸着させ、精製し (水-メタノール)、薄茶色結晶である 3, 9-ジヒドロキシスタウロスボリン 32 mg を得た (収率 40%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ)
9.0(s, 1H), 8.9(s, 1H), 8.5(s, 1H), 8.2(s, 1H), 7.6(d, 1H, J=9.4Hz), 7.2(d, 1H, J=9.4Hz), 7.1(s, 1H), 6.8(d, 2H, J=9.4Hz), 6.5(br. s, 1H), 4.8(s, 2H), 4.0(br. s, 1H), 4.0~2.0(m, 3H), 2.8(s, 3H), 2.3(s, 3H), 2.0(s, 3H)

IR (KBr): 3340, 2900, 1664, 1657, 1620, 1580, 1472, 1390, 1346 cm⁻¹

MS (FAB-) 499 (M⁺ +1)

実施例 4

(i) 6-アセチル-3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロ

カゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製して、淡黄色結晶 3, 9-ジヒドロキシ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 196 mg を得た (収率 79%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆+D₂O, δ)
8.20(s, 1H), 7.78(d, 1H, J=9.6Hz), 7.43(d, 1H, J=9.6Hz), 7.31(s, 1H), 7.01(d, 2H, J=9.6Hz), 6.83(br. s, 1H), 4.93(s, 2H), 4.91(s, 2H), 4.23(br. s, 1H), 4.0~2.0(m, 3H), 2.73(s, 3H), 2.67(s, 3H), 2.24(s, 3H)

IR (KBr): 3350, 2900, 1700, 1674, 1657, 1620, 1580, 1473, 1408, 1392, 1344, 1316, 1277, 1220, 1142 cm⁻¹

MS (FAB-) 689 (M⁺ +1)

(iii) 3, 9-ジヒドロキシスタウロスボリン

3, 9-ジヒドロキシ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 110 mg (0.164 mmol) をメチル

ロエトキシカルボニル)スタウロスボリン

6-アセチル-3, 9-ジホルミル-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 172 mg (0.23 mmol) を乾燥テトラヒドロフラン 8 ml に溶解した液を、水素化ホウ素ナトリウム 49 mg を含む乾燥テトラヒドロフランの懸濁液 2 ml に加え、室温にて 2.5 時間反応を行った。反応終了液に水 100 ml を加えた後、クロロホルムで抽出し、そのクロロホルム溶液を水洗いし、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) にて精製して、淡黄色結晶 6-アセチル-3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 83.6 mg を得た (収率 48%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ)
9.00(s, 1H), 7.89(s, 1H), 7.83(d, 1H, J=9.0Hz), 7.50(d, 1H, J=9.0Hz), 7.46(d, 1H, J=9.0Hz), 7.40

(d, 1H, J=9.0Hz), 6.93(m, 1H), 5.23(s, 2H), 5.13(s, 2H), 4.93(s, 2H), 4.64(s, 1H), 4.62(s, 1H), 4.26(br, s, 1H), 4.0 ~ 3.0(m, 1H), 2.80 ~ 2.00(m, 2H), 2.73(s, 3H), 2.64(s, 3H), 2.62(s, 3H), 2.33(s, 3H)

IR (KBr) : 3460, 2956, 2891, 1716, 1620, 1596, 1460, 1420, 1384, 1344, 1316, 1290 cm^{-1}

MS (FAB-) 743 ($M^+ + 1$)

(ii) 3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン

6-アセチル-3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 360 mg (0.48 mmol) をメチルセロソルブ 36 ml に加えた後、飽水ヒドラジン (85%) 12 ml を滴下し、室温にて 30 分間反応を行った。反応終了液に水 100 ml を加えた後、クロロホルム 100 ml で抽出し、そのクロロホルム溶液を水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、

スタウロスボリン 35.8 mg (0.05 mmol) をメチルセロソルブ 15 ml に溶解し、0℃に冷却下、亜鉛粉末 2 g および 1N-塩酸 3 ml を順次加え、室温で 5 時間反応を行った。反応終了後、25%アンモニア水 17 ml を加え、亜鉛等の不溶物を濾去した。溶液にクロロホルムを加えて抽出し、クロロホルム溶液を水洗した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して、薄茶色結晶の 3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)スタウロスボリン 17.8 mg を得た(収率 66%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ) 9.13(s, 1H), 8.40(s, 1H), 7.82(d, 1H, J=9Hz), 7.80(s, 1H), 7.53(s, 1H), 7.47(s, 1H), 7.40(d, 1H, J=9Hz), 6.67(s, 1H), 5.13(br, s, 2H), 4.93(s, 2H), 4.73(s, 4H), 4.66(s, 1H), 4.06(s, 1H), 4.06(s, 1H), 4.0 ~ 3.0(m, 1H), 3.27(s, 3H), 2.5 ~ 2.4(m, 2H), 2.30(s, 3H), 1.47(s, 3H)

溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して、淡黄色結晶 3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 254 mg を得た(収率 75%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ) 9.13(s, 1H), 8.46(s, 1H), 7.82(s, 1H), 7.80(d, 1H, J=9.0Hz), 7.70 ~ 7.20(m, 2H), 7.00(br, s, 1H), 5.13(s, 3H), 5.00(s, 2H), 4.67(s, 4H), 4.26(br, s, 1H), 2.70 ~ 2.55(m, 1H), 2.73(s, 1H), 2.60(s, 1H), 2.50 ~ 2.40(m, 1H), 2.33(s, 1H)

IR (KBr) : 3481, 2943, 1691, 1678, 1592, 1455, 1400, 1383, 1338, 1303, 1286, 1255, 1230, 1217, 1148, 1130, 1100, 1080 cm^{-1}

MS (FAB-) 701 ($M^+ + 1$)

(iii) 3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)スタウロスボリン

3, 9-ジ(ヒドロキシメチル)-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)

IR (KBr) : 3370, 1666, 1657, 1590, 1457, 1412, 1396, 1350 cm^{-1}

MS (FAB-) 525 ($M^+ + 1$)

実施例 5

(i) 6-アセチル-9-ホルミル-3-ニトロ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン

乾燥ジクロロメタン 1 ml に 6-アセチル-3-ニトロ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 110 mg (0.151 mmol) を溶解させ、0℃に冷却下、四塩化チタン 170 μl (1.0 eq)、さらに α, α -ジクロロメチルメチルエーテル 67 μl (5 eq) を加え、室温で 25 時間反応を行った。反応終了液にジクロロメタン 100 ml を加えた後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧除去することにより、黄色結晶 6-アセチル-9-ホルミル-3-ニトロ-4'-N-(β, β, β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロスボリン 17.8 mg を得た(収率 66%)。

ルボニル) スタウロスボリン 65 mg (0.086 mmol) を得た (収率 57%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ)
9.91(s, 1H), 9.88(s, 1H), 8.31(s, 1H), 8.28(d, 1H, J=7.8Hz), 8.19(d, 1H, J=7.8Hz), 7.76(d, 1H, J=7.8Hz), 7.63(d, 1H, J=7.8Hz), 6.93(br.s, 1H), 5.00(s, 2H), 4.97(s, 2H), 4.16(br.s, 1H), 3.10~2.10(m, 3H), 2.72(s, 3H), 2.57(s, 3H), 2.51(s, 3H), 2.49(s, 3H), 2.41(s, 3H)

IR (KBr): 2900, 1720, 1695, 1640, 1595, 1465, 1386, 1341, 1295, 1197, 1143, 1110, 746 cm⁻¹

MS (FD-) 755 (M⁺)

(ii) 9-ヒドロキシ-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル) スタウロスボリン

6-アセチル-9-ホルミル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル) スタウロスボリン 264 mg (0.35 mmol) をジクロロメタン 50 ml に溶解させた後、メタクロ過安息香酸 330 mg および炭酸水

素カリウム 100 mg を加え、光遮断下、室温にて 3.5 時間反応を行った。反応終了液を飽和亜硫酸ナトリウム水溶液 50 ml、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 50 ml および水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。乾燥剤濾去後、溶媒を減圧下に除去した残渣をメチルセロソルブ 40 ml に溶解した後、4N-水酸化ナトリウム水溶液 10 ml を加え、室温にて 2 時間攪拌した。反応終了液を 1N-塩酸 50 ml で中和した後、ジクロロメタンで抽出し、そのジクロロメタン溶液を水洗いし、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製して、黄色結晶 9-ヒドロキシ-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル) スタウロスボリン 171 mg (0.24 mmol) を得た (69%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ)
9.91(s, 1H), 8.90(s, 1H), 8.28(d, 1H, J=7.8Hz), 8.

19(d, 1H, J=7.8Hz), 7.60(d, 1H, J=7.8Hz), 7.16(s, 1H), 6.83(d, 1H, J=7.8Hz), 6.71(br.s, 1H), 5.01(s, 1H), 4.96(s, 1H), 4.18(br.s, 1H), 3.10~2.10(m, 3H), 2.73(s, 3H), 2.51(s, 3H), 2.40(s, 3H)

IR (KBr): 3408, 2950, 1720, 1695, 1632, 1590, 1455, 1386, 1295, 1196, 1142, 1116 cm⁻¹

MS (PD-) 701 (M⁺)

(iii) 3-アミノ-9-ヒドロキシスタウロスボリン

9-ヒドロキシ-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル) スタウロスボリン 120 mg (0.171 mmol) をメチルセロソルブ 500 ml に溶解し、0℃にて冷却下、亜鉛粉末 1.0 g および 1N-塩酸 10 ml を順次加え、室温で 2 時間反応を行った。反応終了後、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 50 ml を加え、亜鉛等の不溶物を濾去した。溶液にクロロホルムを加えて抽出し、クロロホルム溶液を水洗いした後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム

濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム-メタノール) により精製して、薄茶色結晶の 3-アミノ-9-ヒドロキシスタウロスボリン 27 mg を得た (収率 32%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ)
8.70(s, 1H), 8.44(s, 1H), 8.31(br.s, 1H), 7.58(d, 1H, J=9.4Hz), 7.23(s, 1H), 7.10(d, 1H, J=8.5Hz), 6.82(d, 1H, J=9.4Hz), 6.81(d, 1H, J=8.5Hz), 6.53(br.s, 1H), 4.78(s, 2H), 5.0~4.5(br.s, 2H), 3.97(br.s, 1H), 3.50~2.10(m, 3H), 3.16(s, 3H), 2.16(s, 3H), 1.69(s, 3H)

IR (KBr): 3330, 2940, 1668, 1601, 1570, 1488, 1460, 1452, 1403 cm⁻¹

MS (FAB-) 498 (M⁺ +1)

実施例 6

(i) 6-アセチル-9-ヒドロキシメチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル) スタウロスボリン
6-アセチル-9-ホルミル-3-ニトロ-

4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロsporin 160 mg (0.211 mmol) を乾燥テトラヒドロフラン 8 ml に溶解した液を、水素化ホウ素ナトリウム 47 mg を含む乾燥テトラヒドロフランの懸濁液 2 ml に加え、室温にて 2.5 時間反応を行った。反応終了液に水 100 ml を加えた後、クロロホルムで抽出し、そのクロロホルム溶液を水洗いし、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)にて精製して、黄色結晶 6-アセチル-9-ヒドロキシメチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロsporin 76 mg を得た (47%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ)
9.90(s, 1H), 8.25(d, 1H, J=8.5 Hz), 8.16(d, 1H, J=8.5 Hz), 7.86(s, 1H), 7.51(d, 1H, J=9.0 Hz), 7.38(d, 1H, J=9.0 Hz), 6.84(m, 1H), 5.03(s, 2H), 4.89(s, 2H), 4.81(s, 2H), 4.63(s, 1H), 4.21(br. s, 1H),

ヒドロキシメチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロsporin 221 mg を得た (収率 67%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ)
9.91(s, 1H), 8.40(s, 1H), 8.22(d, 1H, J=8.5 Hz), 8.16(d, 1H, J=8.5 Hz), 7.88(s, 1H), 7.50(d, 1H, J=9.1 Hz), 7.36(d, 1H, J=9.1 Hz), 6.78(m, 1H), 5.02(s, 2H), 4.91(s, 2H), 4.86(s, 2H), 4.61(s, 1H), 4.20(br. s, 1H), 4.10~2.10(m, 3H), 2.75(s, 3H), 2.54(s, 3H), 2.31(s, 3H)

IR (KBr) : 3430, 2944, 1690, 1677, 1592, 1544, 1458, 1400, 1383, 1338, 1302 cm⁻¹

MS (FD-) 715 (M⁺)

(iii) 3-アミノ-9-ヒドロキシメチルスタウロsporin

9-ヒドロキシ-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロsporin 35 mg (0.049 mmol) をメチルセロソルブ 15 ml に溶解し、0℃に冷却下、亜鉛粉末 2 g および 1N-塩酸 3 ml を順次加え、室

4.0~2.3(m, 3H), 2.76(s, 3H), 2.61(s, 3H), 2.54(s, 3H), 2.30(s, 3H)

IR (KBr) : 2951, 2890, 1715, 1620, 1596, 1520, 1460, 1420, 1383, 1347, 1320, 1300 cm⁻¹

MS (FD-) 757 (M⁺)

(ii) 9-ヒドロキシメチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロsporin

6-アセチル-9-ヒドロキシメチル-3-ニトロ-4'-N-(β , β , β -トリクロロエトキシカルボニル)スタウロsporin 348 mg (0.459 mmol) をメチルセロソルブ 35 ml に溶解させた後、飽水ヒドラジン (85%) 12 ml を滴下し、室温にて 30 分間反応を行った。反応終了液に水 100 ml を加えた後、クロロホルム 100 ml で抽出し、そのクロロホルム溶液を水洗し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、その残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して、黄色結晶 9-

温で 5 時間反応を行った。反応終了後、25%アンモニア水 17 ml を加え、亜鉛等の不溶物を濾去した。溶液にクロロホルムを加えて抽出し、クロロホルム溶液を水洗いした後、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。硫酸ナトリウム濾去後、溶媒を減圧下にて除去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム-メタノール)により精製して薄茶色結晶 3-アミノ-9-ヒドロキシメチルスタウロsporin 14 mg を得た (収率 56%)。

$^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, DMSO-d₆, δ)
8.44(s, 1H), 8.41(s, 1H), 7.86(s, 1H), 7.47(d, 1H, J=9.0 Hz), 7.36(d, 1H, J=9.0 Hz), 7.23(d, 1H, J=8.5 Hz), 6.81(d, 1H, J=8.5 Hz), 6.54(br. s, 1H), 4.91(s, 2H), 4.81(s, 2H), 4.55(s, 1H), 4.16(br. s, 1H), 4.40~4.00(br. s, 2H), 4.10~2.10(m, 3H), 3.41(s, 3H), 2.17(s, 3H), 1.65(s, 3H)

IR (KBr) : 3338, 2943, 1671, 1605, 1572, 1489, 1463, 1451, 1400 cm⁻¹

MS (FAB-) 512 (M⁺ + 1)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.